

А. Н. Маркин, Е. В. Криворучко, О. В. Товчига, В. А. Самойлова, А. А. Стремоухов

КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ ЭКСТРАКТОВ ЛИСТЬЕВ РЯБИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

Рябина обыкновенная (Sorbus aucuparia L.) из семейства розовые (Rosaceae Juss.) в естественных условиях произрастает почти во всей Европе и широко культивируется. Основными действующими веществами рябины плодов являются витамины, органические кислоты, фенольные соединения, углеводы, терпеноиды, обуславливающие их поливитаминное, диуретическое, желчегонное, слабительное, антиоксидантное, противовоспалительное действие. Листья растения изучены недостаточно. Методом ГХ-МС в водном, спиртовом и этилацетатно-спиртовом густых экстрактах листьев рябины обыкновенной определено содержание 24, 38 и 40 карбоновых кислот соответственно. В рябины обыкновенной листьев экстракте густом спиртовом содержится 35,2 г/кг карбоновых кислот, в этилацетатно-спиртовом экстракте – 32,2 г/кг, в водном экстракте – 27,9 г/кг. В экстрактах из гидроксикислот преобладают лимонная и яблочная, из двухосновных кислот – янтарная, из ароматических кислот – бензойная, α -гидроксифенилуксусная и п-кумаровая, из жирных кислот – линоленовая, пальмитиновая и линолевая. Результаты исследования будут использованы при стандартизации экстрактов, полученных из листьев рябины обыкновенной.

Ключевые слова: *рябина обыкновенная (Sorbus aucuparia L.), карбоновые кислоты, экстракт, метод ГХ-МС.*

ВВЕДЕНИЕ

Рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia* L.) из семейства розовые (*Rosaceae* Juss.) в естественных условиях произрастает почти во всей Европе, Передней Азии, на Кавказе, доходит до Крайнего Севера. В Украине растет в подлеске хвойных и смешанных лесов, среди кустарников, на опушках; широко культивируется [1–3]. Рябины плоды являются официальным лекарственным растительным сырьем [4, 5]. Основными действующими веществами рябины плодов являются витамины, органические кислоты, фенольные соединения, углеводы, терпеноиды, обуславливающие их поливитаминное, диуретическое, желчегонное, слабительное, антиоксидантное, противовоспалительное и другие виды действия [1, 6–8]. Листья растения изучены недостаточно. В народной медицине настой листьев рябины обыкновенной применяют в качестве диуретического, желчегонного, противовоспалительного и легкого слабительного средства [1, 9]. Ранее мы проводили фитохимическое изучение листьев рябины обыкновенной, исследовали фармакологическую активность полученных из них экстрактов [2, 9, 10].

Целью работы является изучение состава и содержания карбоновых кислот в вод-

ном, спиртовом и этилацетатно-спиртовом густых экстрактах листьев рябины обыкновенной для их дальнейшей стандартизации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследований листья рябины обыкновенной заготавливали в июне 2015 г. и 2018 г. в ботаническом саду НФаУ. Идентификацию сырья проводили на основании гербариев растения, хранящихся в гербарном фонде кафедры фармакогнозии НФаУ. Густые водный и спиртовый экстракты получали экстракцией листьев рябины обыкновенной водой и 50 % этанолом соответственно, согласно методике ГФУ методом мацерации [11, 12]. Для получения густого этилацетатно-спиртового экстракта листья рябины обыкновенной вначале экстрагировали хлороформом на аппарате Сокслета, а затем – смесью этилацетат – 96 % этанол (8:2); этилацетатно-спиртовое извлечение упаривали до получения густого экстракта.

Определение карбоновых кислот в густых экстрактах листьев рябины обыкновенной проводили модифицированным [13] методом ГХ-МС на хроматографе Agilent Technologies 6890N с масс-спектрометрическим детектором 5973N. Исследуемый экстракт (1 мл) помещали

в вials на 2 мл, добавляли внутренний стандарт (50 мкг тридекана в гексане) и хлористый метилен. Далее полученное извлечение анализировали по методике, описанной в работе [14]. Условия хроматографирования также описаны в работе [14]. Для идентификации компонентов использовали библиотеку масс-спектров NIST05 и WILEY 2007 с общим количеством спектров более 470000 в сочетании с программами для идентификации AMDIS и NIST.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения содержания карбоновых кислот в водном, спиртовом и

этилацетатно-спиртовом густых экстрактах, полученных из листьев рябины обыкновенной, представлены в таблице. На рисунке приведена типичная хроматограмма метиловых эфиров карбоновых кислот рябины обыкновенной листьев экстракта густого спиртового.

Как видно из результатов исследования, в рябины обыкновенной листьев экстракте густом водном определено содержание 24 карбоновых кислот, из которых 2 гидроксикислоты, 5 двухосновных, 10 ароматических, 7 жирных (4 насыщенные и 3 ненасыщенные) кислот. Общее содержание карбоновых кислот составляет 27,9 г/кг, из которых гидроксикислоты составляют 73,9 %, двухосновные кислоты – 6,2 %,

Таблица. – Карбоновые кислоты густых экстрактов листьев рябины обыкновенной

Кислота	Время удерживания, мин.	Содержание в экстракте, мг/кг		
		водном	спиртовом	этилацетатно-спиртовом
1	2	3	4	5
Гидроксикислоты				
Яблочная	21,598	8419,9	6856,2	170,9
Лимонная	28,803	12214,0	4621,5	175,9
Всего		20633,9	11477,7	346,8
Двухосновные кислоты				
Щавелевая	9,195	148,8	335,8	467,6
Малоновая	11,370	540,4	640,6	283,4
Фумаровая	12,234	82,7	130,6	167,1
Янтарная	13,160	616,6	4779,8	2573,6
Глутаровая	16,238	-	50,5	64,0
Адипиновая	17,995	-	-	39,7
2-Гидрокси-3-метилглутаровая	19,545	-	40,3	97,3
Азелаиновая	24,682	330,8	143,2	341,4
Тапсиевая	36,371	-	100,8	83,9
Октадекандиовая	37,866	-	1022,1	127,0
Всего		1719,3	7243,7	4245,0
Ароматические кислоты				
Бензойная	13,801	1760,8	4493,1	2819,8
Фенилуксусная	17,248	100,6	65,7	60,9
Салициловая	17,627	161,3	36,5	112,6
α -Гидроксифенилуксусная	25,479	592,0	849,7	7681,1
Ванилиновая	32,690	102,3	215,4	329,4
<i>n</i> -Кумаровая	33,633	660,1	397,8	887,0
<i>n</i> -Гидроксибензойная	37,063	86,0	157,6	85,5
Сиреневая	37,308	131,0	36,7	26,0
Гентиизиновая	37,486	219,9	35,2	35,4
Феруловая	39,795	468,7	314,8	337,7
Всего		4282,7	6602,5	12375,4

Продолжение таблицы.

1	2	3	4	5
Жирные кислоты и их производные				
Капроновая*	4,923	-	39,9	163,3
Левулиновая**	12,797	-	5763,8	715,9
Лауриновая*	18,017	-	43,3	98,8
Миристиновая*	22,998	-	234,3	380,1
9-Оксононановая**	23,014	-	-	395,7
Пентадециловая*	23,890	-	91,6	69,7
Пальмитиновая*	26,461	315,1	1000,9	5095,5
Пальмитолеиновая	27,392	-	49,7	607,7
Маргариновая*	28,602	-	53,8	58,2
Стеариновая*	29,840	50,4	137,9	373,8
Олеиновая	30,103	50,0	174,5	243,8
Линолевая	30,744	370,5	251,3	1283,9
Линоленовая	31,737	279,5	1004,4	5096,3
2-Гидроксипальмитиновая**	33,192	-	60,4	221,2
Арахидовая*	33,326	56,6	74,2	124,2
Бегеновая*	35,813	-	736,7	107,9
Трикоциловая*	36,756	-	122,9	96,9
Лигноцериновая*	38,418	169,3	67,2	104,2
Всего		1291,4	9906,8	15237,1
Содержание насыщенных жирных кислот		591,4	2602,7	6672,6
Содержание ненасыщенных жирных кислот		700,0	1479,9	7231,7
Содержание производных жирных кислот		-	5824,2	1332,8
Содержание суммы карбоновых кислот		27927,3	35230,7	32204,3

Примечание: * – насыщенные жирные кислоты; ** – производные жирных кислот.

Abundance

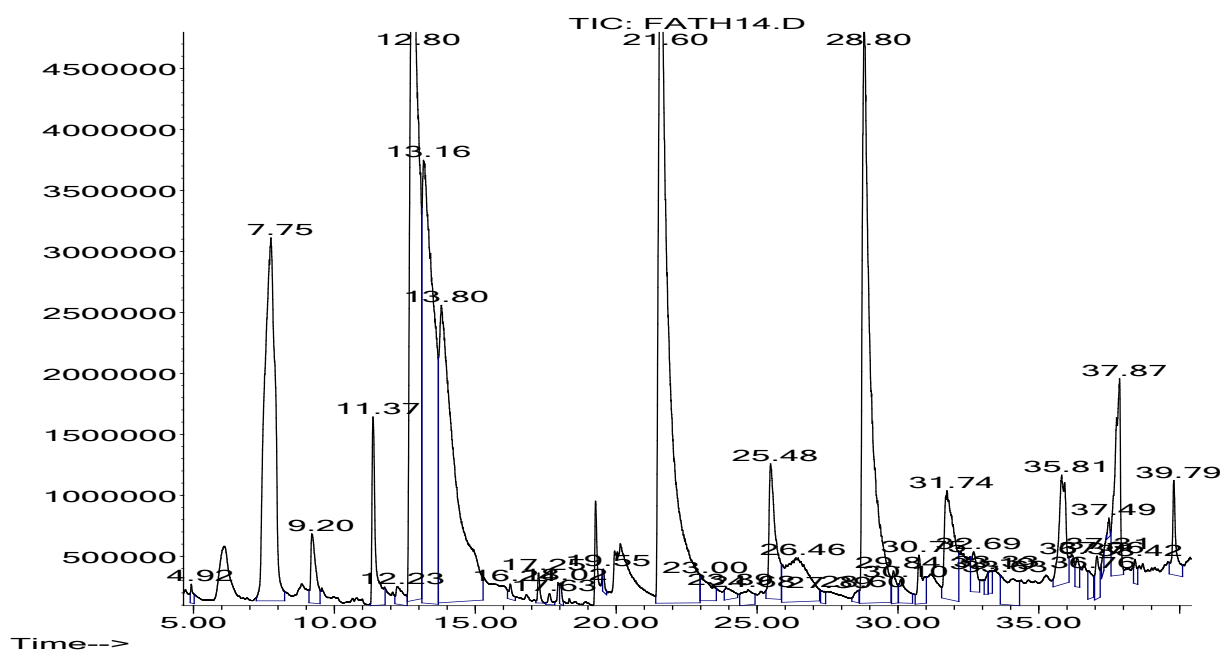


Рисунок. – Хроматограмма метиловых эфиров карбоновых кислот рябины обыкновенной листьев экстракта густого спиртового

ароматические кислоты – 15,3 %, жирные кислоты – 4,6 % (содержание насыщенных кислот составляет 45,8 % от суммы жирных кислот). Доминирующими кислотами из гидроксикислот являются лимонная, из двухосновных кислот – янтарная и малоновая, из ароматических кислот – бензойная, из жирных кислот – линолевая, пальмитиновая и линоленовая.

В рябины обыкновенной листьев экстракте густом спиртовом определено содержание 38 карбоновых кислот, из которых 2 гидроксикислоты, 9 двухосновных, 10 ароматических, 17 жирных кислот и их производных (11 насыщенных, 4 ненасыщенные, 2 оксипроизводные) кислот. Общее содержание карбоновых кислот составляет 35,2 г/кг, из которых гидроксикислоты составляют 32,6 %, двухосновные кислоты – 20,6 %, ароматические кислоты – 18,7 %, жирные кислоты – 28,1 % (содержание насыщенных кислот составляет 26,3 % от суммы кислот). Доминирующими кислотами из гидроксикислот являются яблочная, из двухосновных кислот – янтарная, октадекандиовая и малоновая, из ароматических кислот – бензойная и α -гидроксифенилуксусная, из жирных кислот и их производных – левулиновая, линоленовая и пальмитиновая.

В рябины обыкновенной листьев экстракте густом этилацетатно-спиртовом определено содержание 40 карбоновых кислот, из которых 2 гидроксикислоты, 10 двухосновных, 10 ароматических, 18 жирных кислот и их производных (11 насыщенных, 4 ненасыщенные, 3 производные жирных кислот). Общее содержание карбоновых кислот составляет 32,2 г/кг, из которых гидроксикислоты составляют 1,1 %, двухосновные кислоты – 13,2 %, ароматические кислоты – 38,4 %, жирные кислоты – 47,3 % (содержание насыщенных кислот составляет 43,8 % от суммы жирных кислот). Доминирующими кислотами из гидроксикислот являются лимонная, из двухосновных кислот – янтарная, из ароматических кислот – α -гидроксифенилуксусная, бензойная и *n*-кумаровая, из жирных кислот – линоленовая, пальмитиновая и линолевая.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом ГХ-МС в водном, спиртовом и этилацетатно-спиртовом густых

экстрактах листьев рябины обыкновенной определено содержание 24, 38 и 40 карбоновых кислот соответственно. В рябины обыкновенной листьев экстракте густом спиртовом содержится больше карбоновых кислот (35,2 г/кг), чем в этилацетатно-спиртовом (32,2 г/кг) и водном (27,9 г/кг) экстрактах. Гидроксикислот и двухосновных кислот содержится больше в рябины обыкновенной листьев экстракте густом водном, а ароматических и жирных кислот и их производных – в этилацетатно-спиртовом экстракте. В экстрактах из гидроксикислот преобладают лимонная и яблочная, из двухосновных кислот – янтарная, из ароматических кислот – бензойная, α -гидроксифенилуксусная и *n*-кумаровая, из жирных кислот – линоленовая, пальмитиновая и линолевая.

Экстракты, полученные из листьев рябины обыкновенной, являются перспективными для дальнейшего фитохимического и фармакологического исследования.

SUMMARY

A. N. Markin, E. V. Krivoruchko,
O. V. Tovchiga, V. A. Samoilova,
A. A. Stremoukhov

CARBOXYLIC ACIDS OF MOUNTAIN ASH LEAVES EXTRACTS

Mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.) from the Rosaceae family (Rosaceae Juss.) naturally grows throughout Europe and it is widely cultivated. The main active substances of the mountain ash fruit are vitamins, organic acids, phenolic compounds, carbohydrates, terpenoids causing their multivitamin, diuretic, choleretic, laxative, antioxidant, anti-inflammatory actions. The leaves of the plant are studied insufficiently. The content of 24, 38 and 40 carboxylic acids respectively is determined by GC-MS method in aqueous, ethanol and ethyl acetate-ethanol dense extracts of mountain ash leaves. The dense ethanol extract of mountain ash leaves contains 35,2 g/kg of carboxylic acids, the ethyl acetate-ethanol dense extract contains 32,2 g/kg and the aqueous extract contains 27,9 g/kg. Citric and malic acids, succinic acid among dibasic acids, benzoic, α -hydroxyphenylacetic and *p*-coumaric acids among aromatic acids, and linolenic, palmitic and linoleic acids among fatty acids predominate in hydroxic acid extracts. The results of the study will be used

to standardize the extracts obtained from the leaves of mountain ash.

Keywords: mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.), carboxylic acids, extract, GC-MS method.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фармацевтична енциклопедія / голова ред. ради та автор передмови В. П. Черних. – 3-тє вид., переробл. і допов. – К. : «МОРІОН», 2016. – 1952 с.

2. Криворучко, О. В. Гідроксикоричні кислоти і флавоноїди горобини звичайної і горобини арії / О. В. Криворучко, О. М. Маркін // Зб. наук. прац. співробіт. НМА-ПО імені П. Л. Шупика. – К., 2017. – Вип. 28. – 560 с. – С. 67–73.

3. Variation of quantitative composition of phenolic compounds in rowan (*Sorbus aucuparia* L.) leaves during the growth season / K. Gaivelyte [et al.] // Nat. Prod. Res. – 2014. – Vol. 28, № 13. – P. 1018–1020.

4. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.

5. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 3 т. Т. 2. Общие и частные фармакопейные статьи / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Минск: Минский государственный ПТК полиграфии им. В. Хоружей, 2009. – 471 с.

6. Olszewska, M. Separation of quercetin, sexangularetin, kaempferol and isorhamnetin for simultaneous HPLC determination of flavonoid aglycones in inflorescences, leaves and fruits of three *Sorbus* species / M. Olszewska // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2008. – Vol. 48, № 3. – P. 629–635.

7. Olszewska, M. Antioxidant activity of inflorescences, leaves and fruits of three *Sorbus* species in relation to their polyphenolic composition / M. Olszewska, P. Michel // Natural Product Research. – 2009. – Vol. 23, № 16. – P. 1507–1521.

8. Phenolic and antioxidant profiles of rowan (*Sorbus* L.) fruits / R. Raudonis [et al.] // Nat. Prod. Res. – 2014. – Vol. 28, № 16. – P. 1231–1240.

9. Маркін, О. М. Дослідження горобини звичайної листя екстракту густого, який має антигіперглікемічну дію / О. М. Маркін, О. В. Криворучко, О. В. Товчига // Ліки – людині. Сучасні проблеми фармако-терапії і призначення лікарських засобів : матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 14-15 березня 2019 р. : у 2 т. – Х. : НФаУ, 2019. – Т. 2. – С. 174.

10. Кононенко, А. В. Листя горобини звичайної – перспективна сировина для отримання препаратів з антиартритною дією / А. В. Кононенко, С. М. Дроговоз, О. В. Криворучко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 2 (33). – С. 51–55.

11. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 1. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. – 360 с.

12. Застосування водного екстракту з листя горобини звичайної як засобу з антиальтеративною дією: пат. на винахід 106894 Україна, МПК A61K 36/73, A61P 43/00 / А. В. Кононенко, С. М. Дроговоз, К. Г. Щокіна, О. В. Криворучко; заявник і патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № а 201205318; заявл. 28.04.2012; опубл. 27.10.2014, бюл. № 20.

13. Carrapiso, AI. Development in lipid analysis: some new extraction techniques and in situ transesterification / AI. Carrapiso, C. Garcia // Lipids. – 2000. – Vol. 35, № 11. – P. 1167–1177.

14. Криворучко, Е. В. Карбоновіе кислоти плодів шиповника собачього / Е. В. Криворучко // Вестник фармації. – 2014. – № 3 (65). – С. 38–41.

Адрес для корреспонденции:

61168, Украина,
г. Харьков, ул. Валентиновская, 4,
Национальный фармацевтический университет,
кафедра фармакогнозии,
тел. +38(0572)679208,
e-mail: gnosy@nuph.edu.ua,
Криворучко Е.В.

Поступила 02.04.2019 г.